

«СОГЛАСОВАНО»

Руководитель отдела качества
и нормативного регулирования

ООО «Био-Рад Лаборатории»
/А.И. Гришнина

2019 г.

№ 133/2018
12.11.2018г.

М.П.

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор направления

«Клинические исследования»

ООО «Независимая лаборатория ИНВИТРО»

/Я. Э. Новикова

«29» 2019 г.

М.П.

ИНСТРУКЦИЯ

По применению медицинского изделия для диагностики in vitro

**Среда питательная хромогенная для выделения, дифференциации и
количественного учета микроорганизмов,
вызывающих инфекции мочевыводящих путей, - UriSelect 4.**

Bio-Rad (Био-Рад), Франция.

№238/2018

Среда питательная хромогенная для выделения, дифференциации и
количественного учета микроорганизмов,
вызывающих инфекции мочевыводящих путей, -
UriSelect 4.

Исполнения:

UriSelect 4, готовая к использованию среда в чашках диаметром 90мм - 20 шт.

UriSelect 4, готовая к использованию среда в чашках диаметром 90мм - 100 шт.

UriSelect 4, сухая среда, 500г

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ



UriSelect 4

▽ 20
▽ 100
▽ 500г

КАТ.№ 63726

КАТ.№ 63727

КАТ.№ 64694

Среда питательная хромогенная для выделения, дифференциации и количественного учета микроорганизмов, вызывающих инфекции мочевыводящих путей.



882044 - 2013/11

Содержание

1. НАЗНАЧЕНИЕ
2. КРАТКИЙ ОБЗОР И ОПИСАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
3. ПРИНЦИП МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ
4. СОСТАВ
5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ
6. ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ
7. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ
8. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ
9. ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
10. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
11. БИБЛИОГРАФИЯ



1[РУС]

1. НАЗНАЧЕНИЕ

UriSelect 4, хромогенная неселективная питательная среда (агар) предназначена для выделения, дифференциации и количественного учета микроорганизмов, вызывающих инфекции мочевыводящих путей. **UriSelect 4** позволяет проводить дифференциацию и прямую идентификацию *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp. и *Proteus mirabilis*.

2. КРАТКИЙ ОБЗОР И ОПИСАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Инфекции мочеполовых путей (ИМП) принадлежат к числу наиболее распространенных бактериальных инфекций и составляют значительную часть нагрузки лабораторий клинической микробиологии. К микроорганизмам, наиболее часто вызывающим ИМП, относятся бактерии группы *Escherichia coli*, *Enterococci*, *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* (KES) и *Proteus-Morganella-Providencia*. Кроме того, у женщин причиной ИМП хоть и меньшей частотой могут выступать *Staphylococcus saprophyticus* и *Streptococcus agalactiae*.

Перечисленные микроорганизмы обладают различной чувствительностью к антимикробным препаратам, поэтому для обеспечения эффективной антибактериальной терапии необходима идентификация бактерий до вида. Лаборатория должна провести количественные исследования для определения клинической значимости выделенных микроорганизмов.

UriSelect 4 – это неселективная хромогенная среда для изоляции и подсчета всех микроорганизмов, выделяемых из мочеполовых путей:

- **прямая идентификация** бактерий, наиболее часто являющихся причиной инфекций мочеполовых путей, а именно: *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* и энтерококков по визуальной фиксируемой ферментативной активности;
- **предварительная идентификация** других видов уропатогенов, в частности, энтеробактерий групп KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* и *Citrobacter*) и PMP (*Proteus-Morganella-Providencia*).

3. ПРИНЦИП МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ

В состав агара **UriSelect 4** входит богатая питательная основа, содержащую различные пептоны и триптофан, а также хромогенная смесь, позволяющая детектировать специфическую активность ферментов, тем самым обеспечивая дифференцирование конкретных видов или групп микроорганизмов, используя минимальное количество подтверждающих тестов. Высокая концентрация агара предотвращает роение *Proteus*.

Внешнее проявление активности различных ферментов микроорганизмов:

• Прямое исследование

После инкубации при 35-37°C в течение 18-24 часов определяется цвет выросших колоний:

- **β-галактозидаза:** розовые колонии
- **β-глюкозидаза:** бирюзово-голубые колонии,
- **β-галактозидаза и β-глюкозидаза:** сине-фиолетовые колонии
- **Триптофан-деаминаза (TDA):** коричневатый ореол вокруг оранжево-коричневых колоний.

• После добавления реагента

Для выявления триптофаназы (продукция индола) нанести 1 каплю реагента Ковача (или James, или DMACA) непосредственно на хорошо изолированную колонию, прямо на поверхность агара (см п. 7 Процедура исследования).



Тест на индол	Положительная реакция	Отрицательная реакция
Реагент Ковача	Реагент изменяет цвет на розовый в пределах 15 секунд	Изменения цвета не происходит
Реагент James	Колонии приобретают красный цвет в пределах 15 секунд	
Реагент DMACA (парадиметилкоричный альдегид)	Колонии приобретают сине-фиолетовый в пределах 2 минут	

4. СОСТАВ

4.1. ОПИСАНИЕ

Среда UriSelect 4 (URI4) представлена в трех исполнениях:

	Идентификация на этикетке (номер по каталогу)	Описание	Представление/Готовность к использованию
UriSelect 4	63726	Упаковка чашек Петри со средой	Готовая к использованию среда в чашках диаметром 90мм - 20шт.
	63727	Упаковка чашек Петри со средой	Готовая к использованию среда в чашках диаметром 90мм - 100шт.
	64694	Флакон, 500 г	Сухая среда, 500 г

Состав питательной среды (ориентировочно) (г/л)

Смесь пептонов	21
Диоксид кремния	20
Хромогенная смесь	<1
Триптофан	1
Агар	16

4.2. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Реагенты могут быть использованы до даты, указанной на упаковке.

Исполнение	Условия хранения
Чашки Петри со средой	+2-8°C, в защищенном от света месте
Сухая среда	+15-25°C, в плотно закрытой банке в сухом месте

Срок годности и номер партии указаны на упаковке.
Время воздействия света до и во время инкубации должно быть сведено к минимуму, поскольку свет может отрицательно сказаться на характеристиках среды.

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Только для диагностики *in vitro*.
Только для профессионального использования.



5.1. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЗДОРОВЬЯ И БЕЗОПАСНОСТИ:

- Данное изделие предназначено для использования только квалифицированными специалистами, прошедшими специальное обучение в области проведения лабораторных исследований и осведомленными о связанных с ними потенциальных факторах риска. Следует использовать специальную защитную одежду, перчатки и средства для защиты глаз/лица и должным образом соблюдать соответствующие Принципы надлежащей лабораторной практики (Good Laboratory Practices).
- При проведении всех процедур исследования следует соблюдать требования асептики и установленные меры защиты от микробиологических опасностей.
- Все образцы и материалы, использованные для проведения теста, должны быть утилизированы как вещества, потенциально содержащие возбудителей инфекции. Обращение с лабораторными, химическими и биологически опасными отходами, а также их утилизация, должны осуществляться с соблюдением местных, региональных и национальных нормативных требований.
- Информация о вредном воздействии и опасности некоторых химических компонентов, входящих в состав данного изделия, и рекомендации по обращению с этими компонентами, отображены при помощи символов, размещенных на этикетках, а также представлены в конце инструкций по применению. Сертификат безопасности представлен на интернет-сайте www.bio-rad.com.



Содержит <0,25% N,N-диметилформамид (ДМФА):

Вероятность токсического воздействия на репродуктивную систему (1B)

ОПАСНОСТЬ!

5.2. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ПРОЦЕДУРЫ

5.2.1. ПОДГОТОВКА

- Перед использованием рекомендуется выдержать готовые к использованию чашки при комнатной температуре (18-30°C) для стабилизации.
- Не использовать реагенты с истекшим сроком годности.
- Не использовать готовые к использованию чашки Петри с наличием явных признаков контаминации, высыхания, растрескивания или других признаков порчи среды.
- Длительное воздействие света на среду **UriSelect 4** может привести к снижению высеваемости и (или) интенсивности окрашивания колоний микроорганизмов, используемых для контроля качества или выделенных от пациентов.

5.2.2. ПРОВЕДЕНИЕ ПРОЦЕДУРЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Исследование рекомендуется проводить при комнатной температуре (18-30°C).
- Не следует вносить изменения в процедуру исследования.

6. ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Правильный отбор проб для микробиологического исследования мочи имеет большое значение для получения достоверных результатов. Подробные инструкции по отбору образцов для исследования, пробоподготовке и посеву представлены в соответствующих Методических рекомендациях и стандартах⁽²⁾.

7. ПРОЦЕДУРА ИССЛЕДОВАНИЯ

7.1. ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Среда UriSelect 4

7.2. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ С ИЗДЕЛИЕМ

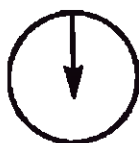
- Калиброванные бактериологические петли на 10 мкл
- Реагенты для теста на индол: реагент Ковача, реагент James или реагент DMACA
- Термостат на 35-37°C
- Контейнер для контаминированных отходов
- Фильтровальная бумага
- Опциональные материалы, не поставляемые с изделием: штаммы микроорганизмов для контроля качества

7.3. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ (если применимо)

Подготовка сухой среды (Кат. № 64694): Гомогенизировать порошок перед использованием. Развести 56,8 г порошка в одном литре дистиллированной воды, непрерывно перемешивая до получения однородной суспензии (около 10 минут). Довести до кипения, непрерывно помешивая, до достижения оптимального разжижения агара. При необходимости отрегулировать pH на 7,3. Автоклавировать при 120°C в течение 15 минут. Разлить среду в чашки Петри с диаметром 90 мм (приблизительный объем – 18-22 мл на чашку).

7.4. МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

- 1) Использовать стандартную бактериологическую петлю на 10 мкл.
- 2) Удерживая петлю вертикально, погрузить ее в емкость с образцом (моча).
- 3) Нанести образец (мочу) петлей на агар одним мазком вдоль радиуса чашки (а)
- 4) Не погружая петлю вторично, произвести посев частым штрихом сверху вниз перпендикулярно первому мазку (б).
- 5) Инкубировать чашку в термостате при 35-37°C в течение 18 – 24 ч.



а) Нанести образец на агар одним мазком с помощью петли



б) Выполнить посев частым штрихом

7.5. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества должен производиться в соответствии с местными, государственными и федеральными нормами или аккредитационными требованиями, а также стандартными процедурами контроля качества конкретной лаборатории.

Качество среды UriSelect 4 может быть проконтролировано с использованием следующих штаммов (учет результатов через 18-24 ч инкубации при 35-37°C).

ШТАММЫ	ЦВЕТ КОЛОНИЙ НА UriSelect 4	ХАРАКТЕРИСТИКИ			
		β-ГАЛАКТОЗИДАЗА	β-ГЛЮКОЗИДАЗА	ИНДОЛ	TDA
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	РОЗОВЫЙ	+	-	+	-
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	БИРЮЗОВО-ГОЛУБОЙ	-	+	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	СИНЕ-ФИОЛЕТОВЫЙ	+	+	-	-
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	ОРАНЖЕВО-КОРИЧНЕВЫЙ С КОРИЧНЕВАТЫМ ОРЕОЛОМ	-	-	-	+
<i>Providencia stuartii</i> ATCC 33672	ОРАНЖЕВО-КОРИЧНЕВЫЙ С КОРИЧНЕВАТЫМ ОРЕОЛОМ	-	-	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	БЕЛЫЙ	-	-	-	-

7.6. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

7.6.1 СЧИТЫВАНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

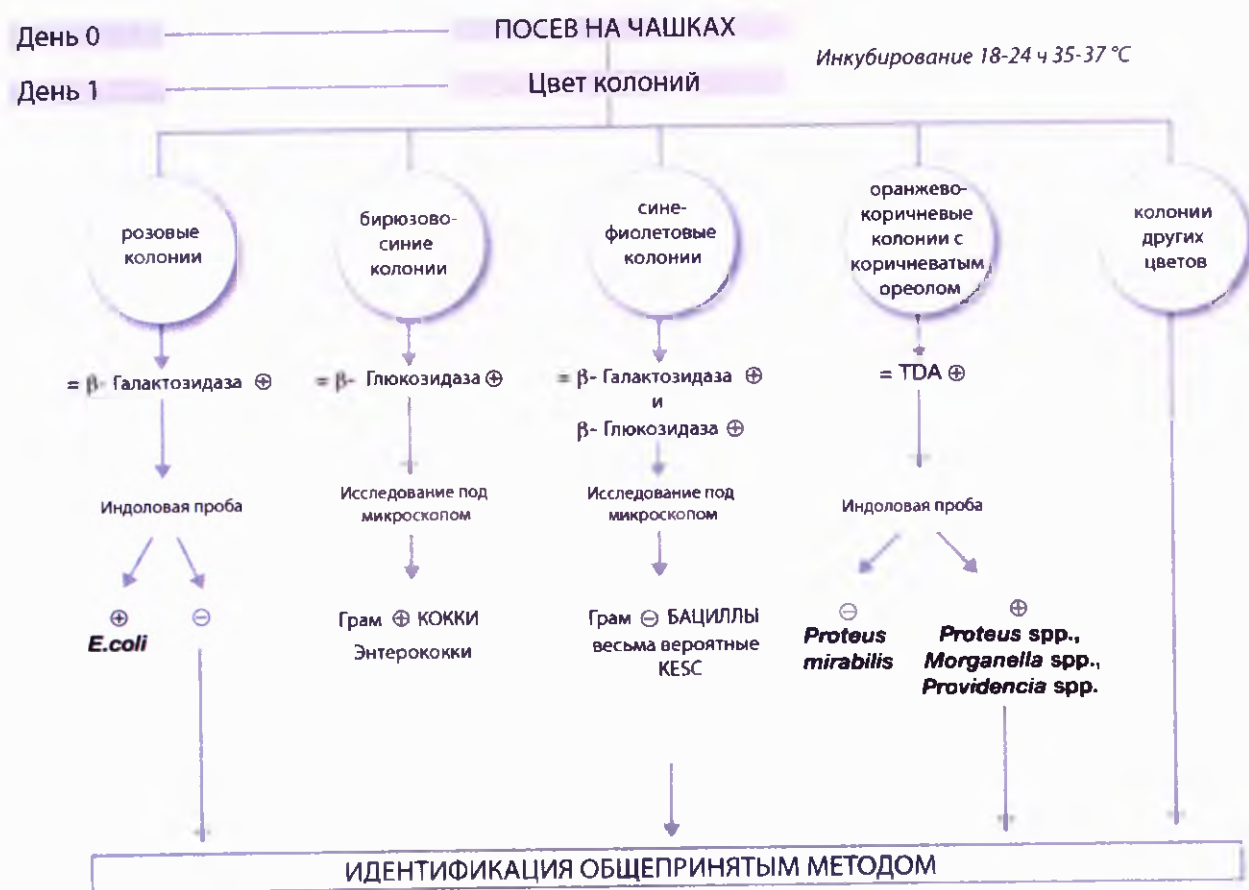
После инкубации в течение 18 – 24 ч при 35-37°С результаты следует интерпретировать с учетом истории болезни пациента, источника образца, клинических проявлений заболевания, лейкоцитарной формулы мочи, результатов идентификации выделенных микроорганизмов и количества выросших колоний.

Среда UriSelect 4 позволяет получить изолированный рост колоний при бактериальной обсемененности мочи вплоть до 10⁴ КОЕ/мл.

7.6.2. ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВЫРОСШИХ КОЛОНИЙ

Микроорганизмы следует идентифицировать, основываясь на цвете колоний, в соответствии с нижеприведенной схемой:





• РОЗОВЫЕ КОЛОНИИ

Обнаружение β-галактозидазной активности позволяет предположить наличие *E.coli*, однако требуется подтверждение с помощью теста на продукцию индола.

Нанести одну каплю **реагента для теста на индол** на хорошо изолированную розовую колонию, интерпретировать результаты в соответствии с указаниями, приведенными в параграфе 3.

Для смешанных культур: нанести 1-3 морфологически однородные колонии на диск фильтровальной бумаги. Затем добавить одну каплю реагента для теста на индол и определить продукцию индола как описано выше.

Продуцирование индола указывает на то, что выделенный микроорганизм относится к *E.coli* (следует, однако, помнить, что незначительная часть штаммов *E. coli* являются индол-отрицательными).

При отсутствии продуцирования индола дальнейшую идентификацию микроорганизма рекомендуется проводить общепринятыми методами.

Более 99% штаммов *E.coli* обладают β-галактозидазной активностью.

Существует небольшая часть микроорганизмов, которые не являются *E.coli*, но продуцируют β-галактозидазу и могут образовывать розовые колонии на агаре **UriSelect 4**.

Некоторые из этих микроорганизмов редко служат причиной ИМП (*Salmonella*, *Shigella*); другие могут вызывать ИМП, но являются при этом индол-отрицательными (*Citrobacter freundii*) и образуют колонии меньшего размера (*S.saprophyticus*).

• БИРЮЗОВО-ГОЛУБЫЕ КОЛОНИИ

β- глюкозидазная активность: мелкие колонии (0,5 – 1,5 мм в диаметре) яркого бирюзово-голубого цвета, определенные при микроскопическом исследовании как Грам-положительные кокки, принадлежат к энтерококкам.

Если какой-либо из выше перечисленных характеристик недостаточно, следует проводить идентификацию, используя общепринятые методы.

Среди стрептококков только энтерококки продуцируют β -глюкозидазу, образуя колонии яркого бирюзово-голубого цвета.

Очень бледные колонии кокков голубого цвета не обязательно являются энтерококками и подлежат исследованию с помощью общепринятых методов идентификации (могут принадлежать к стрептококкам группы А или В).

• СИНЕ-ФИОЛЕТОВЫЕ КОЛОНИИ

Бактерии, продуцирующие как β -галактозидазу, так и β -глюкозидазу, образуют крупные колонии (диаметром от 2,0 до 3,0 мм) сине-фиолетового цвета.

Определенные как грамотрицательные бациллы, они могут принадлежать к так называемой группе KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* или *Citrobacter*). Дальнейшую идентификацию микроорганизмов следует проводить общепринятыми методами.

Как правило, бактерии из группы KESC продуцируют как β -галактозидазу, так и β -глюкозидазу, образуя сине-фиолетовые колонии. Однако, некоторые штаммы данной группы обладают слабой β -галактозидазной активностью: в данном случае колонии имеют цвет, средний между сине-фиолетовым и бирюзово-голубым.

Citrobacter diversus образует сине-фиолетовые индол-положительные колонии.

• ОРАНЖЕВО-КОРИЧНЕВЫЕ КОЛОНИИ (с коричневатым ореолом)

Триптофан-деаминазная активность (TDA +) свидетельствует о принадлежности микроорганизма к т.н. РМР группе (*Proteus-Providencia-Morganella*). Выявление продукции индола позволяет дифференцировать *Proteus mirabilis* от остальных микроорганизмов группы.

Нанести одну каплю **реагента для теста на индол** непосредственно на хорошо изолированную оранжево-коричневую колонию с коричневатым ореолом, затем интерпретировать результаты в соответствии с указаниями, приведенными в Разделе 3 «Принцип метода исследования».

Для смешанных культур: нанести 1-3 морфологически однородные колонии на диск фильтровальной бумаги. Затем добавить одну каплю реагента для теста на индол и определить продукцию индола так же, как описано выше.

Индол-положительными бактериями являются *Proteus* spp. (виды, отличные от *P. mirabilis*), *Providencia* spp. или *Morganella* spp.

Дальнейшую идентификацию микроорганизмов следует проводить общепринятым методом.

Отсутствие продуцирования индола указывает на то, что данный микроорганизм – *Proteus mirabilis* (редко обнаруживаемый *Proteus penneri*, также является индол-отрицательным, тест на TDA при этом - положительный).

Некоторые *Proteus vulgaris* и *Providencia rettgeri*, обладающие β -глюкозидазной активностью, образуют сине-зеленые или зеленые колонии с коричневатым ореолом. Они идентифицируются положительным тестом на индол.

• БЕЛЫЕ, БЕСЦВЕТНЫЕ ИЛИ КОЛОНИИ ДРУГИХ ЦВЕТОВ

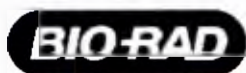
Дальнейшую идентификацию данных микроорганизмов следует проводить общепринятыми методами.

7.6.3. Комментарии

I Каталазный, оксидазный тесты и латексная агглютинация могут выполняться напрямую с колониями, выделенными с UriSelect 4.

II Обычные идентификационные процедуры и тесты на чувствительность к антибиотикам могут проводиться напрямую с колониями, полученными на среде UriSelect 4.

III При подготовке (восстановлении) сухой среды могут иногда оставаться нерастворенные частицы. Наличие таких частиц не влияет на характеристики среды.



8. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА ИССЛЕДОВАНИЯ

- Незначительная часть штаммов стафилококка может не вырасти на **UriSelect 4** за 24 часа.
- Ограниченное число штаммов дрожжевых грибов может не расти на **UriSelect 4**.
- Если в исследуемой пробе предполагается концентрация микроорганизмов выше 10^7 /мл, то для получения хорошо изолированных колоний рекомендуется сделать посев на две чашки Петри последовательно, без повторного смачивая петли, или развести образец мочи перед посевом.
- **UriSelect 4**, приготовленный из сухой среды: при инкубации в течение более 24 ч на поверхности некоторых штаммов *Staphylococcus aureus* может появиться голубоватый оттенок.

9. ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ИМП (инфекции мочевыводящих путей) – одни из самых распространенных бактериальных инфекций. Более того, ИМП стали наиболее частой причиной внутрибольничных инфекций (35%), и являются второй из наиболее распространенных причин бактериемии у госпитализированных пациентов ^(2, 3).

Во многих клинических лабораториях самым распространенным типом выделенных бактериальных культур являются культуры, выделенные из мочи (24%-40% всех исследуемых образцов), из которых 80% представлены культурами, выявленными у амбулаторных больных.

На выделение бактерий влияют такие факторы, как предварительное пребывание в стационаре и/или сопутствующие патологии (см. таблицу).

Например, при проведении клинических испытаний среды UriSelect 4 было показано, что общая распространенность возбудителей ИМП, выявленных обычными методами и на хромогенных средах, составляет 75,8% (589/777). Среди изолятов было выявлено преобладание штаммов *E.coli* (43,3% (351/811)), за которыми следовали штаммы *Enterococcus faecalis*, составившие 19,2% (156/811).

Внебольничные ИМП	Внутрибольничные ИМП*
<i>Escherichia coli</i> (80%)	<i>Escherichia coli</i> (50%)
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Klebsiella</i> – <i>Enterobacter</i> – <i>Serratia</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Acinetobacter spp</i>
	Дрожжевые грибы
<u>Редкие бактерии</u>	
<i>Oligella urethralis</i>	*В частности, у пациентов с постоянным мочевым катетером или после катетеризации
<i>Aerococcus urinae</i>	
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	
<i>Lactobacillus spp</i>	

10. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

10.1. ПРЕЦИЗИОННОСТЬ

Было произведено тестирование панели из девяти штаммов в дублирующих пробах двумя операторами. Три различные партии **UriSelect 4** были протестированы на воспроизводимость ростовых свойств среды (наличие и характер роста, окрашивание колоний). Все тесты продемонстрировали ожидаемые результаты.

10.2. КЛИНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Было проведено перспективное клиническое исследование ⁽¹⁰⁾ на 777 свежих образцах мочи, включая образцы средней порции мочи и образцы, полученные из мочевого катетера: 405 образцов мочи были взяты у госпитализированных больных и 372 образца (47,9%) были предоставлены врачами общей практики. Данные образцы отбирались по следующему принципу: наличие микроорганизмов или содержание в образце >200 лейкоцитов/мм³ по результатам обычного микроскопического исследования.

1 мкл каждого образца параллельно культивировался в дублирующих пробах полуколичественным методом на среде UriSelect 4 и агаре CLED (цистин-лактозо-электродефицитный агар). Считывание и интерпретация результатов производились в соответствии с инструкциями производителя.

Все бактериальные штаммы, продемонстрировавшие значительный рост (≥50 колоний), были исследованы с учетом их морфологии и цвета колоний и идентифицированы биохимическими методами.

Из 777 протестированных образцов в 589 выявлен значительный рост как минимум одного штамма (положительные образцы). Всего хотя бы на одной из сред было выделено 811 штаммов. Исследование дало следующие результаты:

Общие характеристики

		CLED			
		Положительные	Отрицательные	Всего	Общий процент (%) согласующихся результатов с 95% доверительным интервалом
UriSelect 4	Положительные	733	64	797	91,6% [89,5% - 93,4%]
	Отрицательные	4	10	14	
	Всего	737	74	811	

10.3. СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Данное исследование продемонстрировало, что среда UriSelect 4 хорошо подходит для предварительной идентификации наиболее распространенных патогенов мочевыводящих путей, поскольку обеспечивает более высокий уровень дифференциации смешанных культур.

Виды или группа	Основание для предварительной идентификации бактерий	Чувствительность определения	Специфичность окрашивания
Escherichia coli	Красные/розовые колонии	97,1%	98%
	Красные/розовые колонии, индол-положительные	97,1%	100%
Группа Enterococci	Мелкие бирюзово-голубые колонии	100%	100%
Группа RMP	Оранжево-коричневые колонии	82,4%	100%
Группа KESC	Сине-фиолетовые колонии	100%	92%
S. saprophyticus	Мелкие розовые колонии	100%	88,9%



Полученные данные демонстрируют следующие возможности среды UriSelect 4

- 1) **Прямая идентификация:**
- *Escherichia coli*, с высокой степенью специфичности (98%). Незначительная часть штаммов *E.coli* из-за отсутствия β-галактозидазной активности образует колонии белого цвета. Дополнительное выполнение теста на индол повышает специфичность до **100%** для штаммов *E.coli* и позволяет надежно дифференцировать штаммы *E.coli* и *Citrobacter freundii*.
 - Все энтерококки (100%), которые образуют мелкие бирюзово-голубые колонии, просто отличить от стафилококков (также образующих мелкие колонии, но другого цвета).
 - Все протеи (*Proteae*) дают диффузное коричневое окрашивание (100%). Кроме того, отрицательный тест на индол позволяет идентифицировать *P. mirabilis*.
- 2) **Предварительная идентификация:**
- Все *Enterobacteriaceae* из группы KESC (100%), образующие сине-фиолетовые колонии.
 - Все *S. saprophyticus* хорошо растут на агаре UriSelect 4 (100%) с образованием мелких розовых колоний, легко отличимых от колоний других стафилококков, образующих колонии белого цвета. Только *Staphylococcus simulans* образует подобные белые колонии, что снижает специфичность идентификации *S. saprophyticus* до 88,9%.

10.4. **ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ**

Чувствительность определения микроорганизмов на среде UriSelect 4 и среде CLED оценивалась на 589 положительных образцах мочи (показавших значительный рост в ≥50 колоний). Результаты представлены ниже. Необходимо учитывать ранее отмеченные ограничения (Раздел 8).

Всего микроорганизмов/ Среда для выделения	Общее количество штаммов	CLED	UriSelect 4
Всего выделенных штаммов ⁽¹⁾	811 из других сред	737 (90,9%)	797 (98,3%)
Всего не выделенных штаммов	-	74 (9,1%)	14 (1,7%)
<i>Acinetobacter</i> spp.	8	8	8
<i>Aerococcus viridans</i>	1	1	1
<i>Candida</i> spp.	6	5	6
<i>Citrobacter diversus</i>	6	6	6
<i>Citrobacter freundii</i>	11	9	10
<i>Enterobacter aerogenes</i>	5	3	5
<i>Enterobacter cloacae</i>	14	14	13
<i>Enterococcus faecalis</i> ⁽²⁾	156	119	155
<i>Enterococcus faecium</i>	22	20	21
<i>Escherichia coli</i> ⁽³⁾	351	344	347
<i>Klebsiella oxytoca</i>	24	21	24
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	68	61	68
<i>Morganella morganii</i>	12	9	12
<i>Proteus mirabilis</i>	54	49	53
<i>Proteus penneri</i>	1	0	1
<i>Proteus vulgaris</i>	1	1	1
<i>Providencia stuartii</i>	1	1	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	17	19
<i>Serratia</i> spp.	5	5	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	8	8
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ⁽⁴⁾	10	10	7
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	8	8	8
Другие коагулазоотрицательные стафилококки	9	8	8
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	2	2
<i>Streptococcus agalactiae</i>	8	8	8

- (1)Чувствительность среды UriSelect 4 составила 98,3%, в то время как чувствительность среды CLED - только 90,9% штаммов. Основной причиной низкой продуктивности среды CLED оказалась сложность детектирования некоторых штаммов в смешанных культурах. Распределение изолированных видов характеризовалось преобладанием штаммов Enterobacteriaceae с подавляющим большинством E.coli (43%).
- (2)Следует отметить, что максимальная разница в определении выделенных на среде UriSelect 4 микроорганизмов по сравнению с CLED обусловлена детектированием энтерококков. Среда UriSelect 4 дополнительно способствовала росту 30,3% штаммов энтерококков. На UriSelect 4 можно было легко выделить из смешанной культуры мелкие бирюзово-голубые колонии, в то время как на среде CLED данные колонии нередко были замаскированы более крупными колониями Грам-отрицательных бактерий.
- (3)Штаммы E. Coli, которые не удалось определить, не обладали β-галактозидазной активностью, образуя колонии белого цвета.
- (4)Три штамма Staphylococcus epidermidis на среде UriSelect 4 распознать не удалось. В отличие от этого, все штаммы S. saprophyticus и S. aureus продемонстрировали хороший рост. Среда UriSelect 4 оказалась очень эффективной для выявления S. saprophyticus, образующих мелкие колонии розового цвета (другие стафилококки образуют белые колонии, за исключением одного штамма S. simulans).
- Как упоминалось ранее, была отмечена низкая продуктивность среды CLED при детектировании штаммов в смешанной культуре: был определен только 131 штамм (78%) из 168 (28,5%) образцов мочи со смешанной культурой, состоящей не менее чем из 2 штаммов, в то время как на среде UriSelect 4 было выделено 166 штаммов (99%).
- Кроме того, был исследован 51 образец, включающий, по крайней мере, 3 отдельных штамма. На среде CLED наличие трех штаммов удалось подтвердить только в 22 случаях (43%), в то время как среда UriSelect 4 в 47 смешанных культурах (92%) позволила легко определить 3 типа колоний.

		Количество положительных образцов	
		CLED	UriSelect 4
Количество выделенных штаммов	1	453	418
	2	109	119
	3	22 (43%)	47 (92%)
	Смешанная культура	131 (78%)	166 (99%)

10.5. РОСТОВЫЕ СВОЙСТВА СРЕДЫ

Для определения ростовых свойств среды UriSelect 4 была исследована панель уропатогенных микроорганизмов – E.coli, Enterococcus, P. mirabilis, S. aureus и K. pneumoniae при различных степенях разведения. Из каждого тестируемого штамма приготовили суспензию с мутностью 0,5 по стандарту McFarland. Затем после 10-кратных последовательных разведений в физрастворе было сделан посев на среду UriSelect 4. После инкубации чашек в термостате при температуре 35-37°C и атмосферном воздухе в течение 18-24 часов производили считывание результатов. Учитывалось количество и цвет выросших колоний. Полученные данные продемонстрировали, что для достоверного детектирования на среде UriSelect 4 минимальная концентрация большинства уропатогенов составляет 10³ КОЕ/мл.

10.6. КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ УЧЕТ КОЛОНИЙ

Была протестирована панель наиболее распространенных уропатогенных микроорганизмов в различных степенях разведения, от 10¹ до 10⁷ КОЕ/мл мочи, представляющих возможный диапазон концентраций, установленный при обычных исследованиях. Из каждого тестируемого штамма приготовили суспензию с мутностью 0,5 по стандарту McFarland. Затем после 10-кратных последовательных разведений в физрастворе было сделано 10 посевов на среду UriSelect 4. После инкубации чашек в течение 18-24 часов в термостате при температуре 35-37°C и атмосферном воздухе производили считывание результатов. Учитывалось количество и цвет выросших колоний: оказалось возможным посчитать изолированные колонии до концентрации 10⁴ КОЕ/мл мочи. В концентрациях, превышающих вышеуказанную, наличие сливного роста колоний не позволило произвести точный подсчет.

11. БИБЛИОГРАФИЯ

- 1 Isenberg, H.D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
- 2 Miller JM, HT Holmes, K Krisher 2003. General principles of specimen collection and handling. Clinical Microbiology procedures handbook ASM Washington.
- 3 NCCLS. Quality controls for commercially prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard – Third Edition. NCCLS document M22-A3 (ISBN 1-5638-536-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, January 2012.
- 4 Stamm WE. Scientific and clinical challenges in the management of urinary tract infections. Am J Med 2002; 113:1-4.
- 5 Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. Clin Infect Dis 1997; 24:584-602.
- 6 Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
- 7 Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
- 8 Basic Laboratory Procedures Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1991. 1st edition.
- 9 Procedures/Guidelines for the Microbiology Laboratory, College of Physicians & Surgeons of Saskatchewan. Laboratory Quality Assurance Program, January 2010.
- 10 J D Perry, L A Butterworth, A Nicholson, M R Appleby, K E Orr. Evaluation of a new chromogenic medium, UriSelect4, for the isolation and identification of urinary tract pathogens. J Clin Pathol 2003; 56:528-53.
- 11 Ferjani A, Marzouk M, Idriss N, Sammoud S, Hannachi N, Boukadida J. Evaluation du milieu chromogène UriSelect4 au cours des urocultures. Biol Clin 2011; 69 (5):541 doi:10.1684/abs.2011.0615.
- 12 Kornherr et al. Comparison of Three Chromogenic and Two Standard Urine Culture Media for Detection of Urinary Tract pathogens. Department of Microbiology, Gamma-Dynacare Medical Laboratories Ottawa and Toronto, Ontario Canada. Poster ASM 2011.
- 13 E. Thomas, S. Anderson, L. Dawson, C. Barth, K. Manickam, Regina Qu'Appelle Health Region, Regina SK Canada. The use of UriSelect4 chromogenic media for the detection of urinary tract pathogens. Poster 2005.
- 14 James A.L., Yeoman P., Detection of specific bacterial enzymes by high contrast metal chelate formation. Part I. 8-Hydroxyquinoline- β -D-Glucoside, an alternative to aesculin in the differentiation of members of the family Enterobacteriaceae-Zbl. Bakt. hyg. A267. 188-193 (1987).
- 15 Clarridge J.E., Pezzlo M.T., Vosti K.L., Cumitech 2A. Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Coordinating ed. Weissfeld A.S., American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 16 Manafi M., Kneifel W., Fluorogenic and chromogenic substrates - a promising tool in microbiology, Acta Microbiologica Hungarica. 38 (3-4). pp 293-304 (1991).



H360
P281-P308+P313-P501

Опасность!

Может оказывать отрицательное воздействие на фертильность и внутриутробное развитие плода.

Использовать соответствующие индивидуальные средства защиты.

При контакте с материалом обратиться за помощью/консультацией к врачу.

Утилизировать емкости с материалом в соответствии с требованиями местных/региональных/национальных/международных нормативных требований.



H373
P260-P314-P501

Внимание!

Может оказывать разрушающее действие на органы и ткани при длительном или повторяющемся воздействии.

Не вдыхать порошок.

При появлении симптомов недомогания обратиться за помощью/консультацией к врачу.

Утилизировать емкости с материалом в соответствии с требованиями местных/региональных/национальных/международных нормативных требований.

Чашки со средой, готовой к использованию, должны храниться в защищенном от света месте.



Сертификаты анализа доступны на сайте <http://www.bio-rad.com/certificate>.

Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette, Франция

Тел.: +33 (0) 1 47 95 60 00

Факс: +33 (0) 1 47 41 91 33

www.bio-rad.com



2013/11
882044



16[РУС]

ПРИЛОЖЕНИЕ

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ НА ТЕРРИТОРИИ РФ

ОПИСАНИЕ (п.4.1., Дополнение)

UriSelect 4, готовая к использованию среда в чашках диаметром 90мм: непрозрачный агар серого цвета, гомогенный, pH $7,3 \pm 0,2$

Согласно ГОСТ Р ЕН 12322-2010 «Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Питательные среды для микробиологии. Критерии функциональных характеристик питательных сред» (п.4.3.1.2.1), готовая к использованию среда в чашках диаметром 90мм, **UriSelect 4**, относится к готовым к употреблению питательным средам, произведенным таким образом, что их контаминация исключена или снижена до приемлемо низкого уровня.

UriSelect 4, сухая среда, 500г: порошок бежевого цвета, гомогенный.

Растворимость в воде: 56,8 г сухой среды растворяется в 1 л дистиллированной воды при нагревании до кипения и непрерывном помешивании в течение не более 10 минут с образованием однородной суспензии.

После восстановления (подготовки к использованию - приготовления): непрозрачный агар серого цвета, допускается наличие нерастворимых частиц, pH $7,3 \pm 0,2$.

Остаточная влажность (определение потери в массе при высушивании): не более 5%.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ (п. 4.2., Дополнение)

Готовую к использованию среду в чашках следует хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$, в защищенном от света месте (в холодильнике, холодильной камере).

После вскрытия упаковки готовую к использованию среду можно хранить при $+2-8^{\circ}\text{C}$, в защищенном от света месте (в холодильнике, холодильной камере) до 5 недель в плотно закрытом пакете; сухую среду – при $+15-25^{\circ}\text{C}$, плотно закрытой, до окончания срока годности, указанного на упаковке (флаконе).

УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Изделие следует перевозить в оригинальной упаковке производителя, защищающей продукцию от внешних воздействий, на всех видах транспорта в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Температурный режим для транспортирования готовой к использованию среды в чашках: $2-8^{\circ}\text{C}$.

Температурный режим для транспортирования сухой среды: $+15-25^{\circ}\text{C}$.

При проведении погрузочно-разгрузочных работ и транспортировании следует строго выполнять требования манипуляционных знаков, нанесенных на упаковке и транспортной таре.

При несоблюдении условий транспортирования медицинское изделие не подлежит использованию!

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ (п.10, Дополнение)

В ходе клинических испытаний медицинского изделия (в форме клинико-лабораторных испытаний медицинского изделия с целью регистрации МИ), проведенных ООО «Независимая лаборатория ИНВИТРО», проанализировано 140 образцов биологического материала (мочи) от 58 мужчин и 82 женщин в возрасте от 5 месяцев до 94 лет. В сравнительных испытаниях было использовано зарегистрированное в РФ изделие сравнения.

Чувствительность определения микроорганизмов для испытуемого МИ ИВД составила 100%.

Чувствительность определения микроорганизмов в смешанных культурах для испытуемого МИ ИВД составила 100%.

Специфичность окраски выросших колоний (прямое определение целевых микроорганизмов по цвету) составила 100%. Специфичность определения микроорганизмов (отрицательные образцы) составила 100%.



В ходе испытаний подтверждено достоверное соответствие стабильности основных биологических свойств микроорганизмов и результатов количественного учета микроорганизмов на испытуемом МИ и на МИ сравнения до концентрации 10^7 КОЕ/мл, при которой наблюдался обильный сливной рост колоний и точный количественный учет микроорганизмов не представлялся возможным. Наличие сливного роста колоний даже при концентрации микроорганизмов 10^7 КОЕ/мл, не ограничивало возможности прямой идентификации штаммов по цвету и реакции на индол.

По результатам клинических испытаний установлены эффективность, качество и безопасность МИ Среда питательная хромогенная для выделения, дифференциации и количественного учета микроорганизмов, вызывающих инфекции мочевыводящих путей, - **UriSelect 4**, производства Bio-Rad (Био-Рад), Франция.

УТИЛИЗАЦИЯ

Утилизация изделия должна производиться в соответствии с требованиями локального, регионального и национального законодательства.

Все образцы и материалы, использующиеся и образующиеся при выполнении исследований, в том числе реагенты с истекшим сроком годности, следует утилизировать как потенциально эпидемиологически опасные отходы (класс Б).

ГАРАНТИИ

Производитель гарантирует соответствие характеристик медицинского изделия заявленным в эксплуатационной документации до истечения срока годности при соблюдении условий хранения и при условии применения изделия в соответствии с инструкцией и по назначению, предусмотренному производителем.

По всем вопросам, для получения технической консультации и поддержки следует обращаться к уполномоченному представителю производителя на территории РФ:

ООО «Био-Рад Лаборатории»

Адрес: 105064, г. Москва, Нижний Сусальный переулок, дом 5, строение 5А.

Телефон: +7 (495) 721-14-04

Bio-Rad

3, boulevard R. Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette - France
Tél : 789 547 222 63310



Sylvie FERNEZ
Regulatory Affairs Manager

Vu pour certification,
matérielle de la signature
de M^{me} Sylvie
FERNEZ
apposée ci-dessous
à Paris, le 28.05.2019
Ces constatations de signature(s) ne peut ex
aucun cas contraire au présent document le
caractère d'un acte authentique
La responsabilité de l'acte ne peut à aucun
titre être mise en cause en ce qui concerne le
contenu du présent document



Штамп: Био-Рад, 3, Бульвар Раймона Пуанкаре, 92430, Марн-ла-Кокетт, Франция,
идентификационный номер предприятия: 789 947 322 00010

Штамп: Сильвия Фернез, Начальник нормативно-правового отдела
/подпись/

Штамп: свидетельствую верность подписи 2-жи *Сильвии Фернез*, проставленной в
ПАРИЖЕ, 28.05.2019

Это засвидетельствование подписи не подтверждает верность и подлинность
подписанного документа. Нотариус не несет ответственности за содержание такого
документа.

/подпись/

Печать:

Аурель Лорито, нотариус в составе SCP le HONIDEC de KERGALIC и партнеры,

Париж 2, Французская Республика

Перевод данного текста с французского языка на русский язык сделан мной, переводчиком
Веселовым Павлом Дмитриевичем.

Российская Федерация

Город Москва

Четвертого июня две тысячи девятнадцатого года

Я, Акимов Глеб Борисович, нотариус города Москвы, свидетельствую подлинность подписи
переводчика Веселова Павла Дмитриевича.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 77/09-н/77-2019- 52-142

Взыскано государственной пошлины(по тарифу): 100 руб.

Уплачено за оказание услуг правового и технического характера: 200 руб.

Всего приложено, пронумеровано
и скреплено печатью 2 листа(ов)

Нотариус

Г.Б. Акимов

Прошито в количестве 21 листов

«29» мая 2019 года

Директор направления "Клинические исследования"
ООО «ИНВИТРО»

Я. Э. Новикова

